



TITLE:

Dithizoneの前立腺に対する影響 第1編: Dithizoneのラット睪丸,精囊腺,前立腺に対する影響について

AUTHOR(S):

田中, 広見

---

CITATION:

田中, 広見. Dithizoneの前立腺に対する影響 第1編: Dithizoneのラット睪丸,精囊腺,前立腺に対する影響について. 泌尿器科紀要 1966, 12(9): 881-898

ISSUE DATE:

1966-09

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/113023>

RIGHT:

〔泌尿紀要12巻9号〕  
昭和41年9月

## Dithizone の前立腺に対する影響

### 第I編 Dithizone のラット睪丸, 精嚢腺, 前立腺 に対する影響について

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 加藤篤二教授)

大学院学生 田 中 広 見

## EFFECTS OF DITHIZONE ON THE PROSTATIC GLAND

### I EFFECTS OF DITHIZONE ON THE TESTICLE, SEMINAL VESICLE AND PROSTATIC GLAND OF RATS

Hiromi TANAKA

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine*

*(Director: Prof. T. Kato, M. D.)*

So far many reports indicated that the prostatic gland contains fairly large amount of zinc. This report deals with the results of observations on changes of the prostatic gland, testicle and seminal vesicle of rats after administration of Dithizone, one of the zinc-chelating agents, at the dose of 200 mg/kg body weight. Change of DNA synthesis in the acinus wall of the prostatic gland after Dithizone treatment by means of radioautogram using  $^3\text{H}$ -thymidine was also studied. The results are summarized as follows:

1) No noticeable change was found on weight of the rats' testicle, seminal vesicle and prostatic gland after administration of Dithizone.

2) Dithizone-treated rats showed no remarkable histological change in the prostatic gland except for its median lobe.

3) Among the median lobe, exfoliation and destruction of glandular epithelial cells was markedly observed in the lateral and dorsolateral lobes, but less observed in the dorsal lobe.

4) The changes in acinus wall of the lateral and dorsolateral lobes became recognized in about 12 hours after Dithizone administration, became exfoliated and destructed in 3 to 5 days and showed regeneration in 7 to 14 days.

5) In the testicle of the Dithizone-treated rats, changes of interstitial tissue, damages of spermatozoid and appearance of giant cells were observed. However no noticeable change was found in the seminal vesicle.

6)  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation was not differ among the anterior, median and posterior lobes. The grain counts of the incorporated cells were mostly between 4 to 20.

7) After Dithizone administration, however, incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine and its grain counts decreased during the stage when acinus wall showed exfoliation and destruction histologically. Abrupt increase in  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation and slight increase in its grain counts were demonstrated during the stage of regeneration in 7 to 14 days after administration.

8) Based on the results of  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation, it was supposed that the

mechanisms of Dithizone on the prostatic epithelial cells are attributed to its inhibitory effect on nucleic acid synthesis, abnormal nucleic acid composition, abnormal nucleic acid metabolism and relative decrease of DNA synthetic period through zinc.

## 緒 言

1942年岡本<sup>1)</sup>は亜鉛の組織化学的検索の方法として Diphenyl-thiocarbazon (Dithizone) を使用する実験を報告し、同時に家兎、犬、猫、ラット、マウス、モルモット等各種脊椎動物の膀胱ランゲルハンス氏島β細胞には多量の亜鉛が含まれていることを見出した。そして「膀胱ラ氏島のβ細胞には亜鉛が多く含まれている。従って亜鉛とよく反応する物質を与えた場合もしそのものが細胞に対して毒性をもっていればラ氏島β細胞は障害を蒙り、よく糖尿病を発症せしめ得るであろう。」と考え、実際 Dithizone、Quinoline 誘導体等により実験的に糖尿病の発症に成功し、糖尿病亜鉛説<sup>2)</sup>をとなえた。門田(1950)<sup>3)</sup>もまた各種有機物質を用いて実験的糖尿病の発症に成功し、この際亜鉛と Dithizone の結合によるラ氏島β細胞の障害によりインシュリン産生に変化を生じたために糖尿病が発症するものとし、これらの物質の Chelating potential と糖尿病の発症を関連づけている。一方 Bertrand & Vladesco<sup>4)</sup> が1921年初めて雄牛前立腺に高濃度の亜鉛の存在することを報告して以来前立腺の亜鉛については Mawson & Fischer (1951, 1952),<sup>5) 6) 7)</sup> Gunn & Gould (1955, 1956)<sup>8) 9)</sup> Wetterdal(1958)<sup>10)</sup> 等によりラット、家兎、人間の前立腺には特に高濃度の亜鉛が含まれていることが確認されている。先にも述べた様な実験的糖尿病発症の際の膀胱における亜鉛と Dithizone の関連と同様に前立腺における亜鉛と Dithizone の関連を考えると甚だ興味深い。Prout & Whitmore (1957, 1959)<sup>11) 12)</sup> が犬においてその Androgen status と前立腺亜鉛の存在の間には密接な関係があるとし、Mori, Nishizuka & Midorikwa<sup>13) 14)</sup> (1957) がラット前立腺においてその機能と前立腺内亜鉛様物質とは非常に密接な関係があり、特に前立腺の機能が低下している様な場合には亜鉛様物質の反応も少ないし、実験的に

Dithizone 投与により前立腺亜鉛様物質の含有量が低下することを認めている。そして「亜鉛とよく反応する物質を血中に与えると、このものは前立腺細胞内の亜鉛様物質と速かに確実に反応しうる。そしてその反応が鋭敏であり、或程度そのものが有毒性であるならば一仮令、形態学的に変化が認められなくても一前立腺細胞に対して機能的に或程度障害作用を与える筈である。従って前立腺細胞のみならず前立腺癌細胞に対しても当然亜鉛とよく反応する物質のあるものは障害的に作用するものと予想される。」<sup>14)</sup>と述べそれ以来 Dithizone の前立腺に対する影響については欧米においては実験的な報告、前立腺癌の治療に応用した報告等諸家の報告がみられる。しかし我が国では未だその報告はあまりみられない様である。私は Wistar 系雄性ラットを使用し、その腹腔内に Dithizone を投与し、前立腺上皮細胞の脱落、崩壊の起ることを認め、また Tritium thymidine を用いることにより、Dithizone 投与の際の前立腺腔壁における DNA 合成の変動についても観察したので以下報告する。

## 実験材料および実験方法

### 1) 実験動物

200～300gの成熟 Wistar 系雄性ラットを使用した。自由飲水のもとに室温 21～23°C とし、オリエンタル酵母製固型飼料 MF にて飼育した。

### 2) Dithizone (Diphenyl-thiocarbazon)

80mgのMerck製精製Dithizoneを4ccのPropylene-Glycolに浮遊し、1滴の28% NH<sub>4</sub>OHを添加し溶解したものを200mg/kg体重の割合で、オウロバンソーダによる麻酔のもとに腹壁に約1cmの切開を加えた後注射筒により腹腔内に投与した。

### 3) 組織検査

Dithizone投与後ラットは3, 6, 12, 24時間後、および3日, 5日, 7日, 14日, 21日, 30日後に心臓穿刺により屠殺した。Dithizone投与後24時間までに腹腔内、胸腔内に滲出液の貯溜を認め呼吸器系障害と思われる状態でラットの約60%は死亡したので、ラットは多数使用し、各時日において2匹ずつ屠殺した。

屠殺後前立腺全葉は膀胱尿道と共に摘出し、直ちに10%ホルマリン液にて固定した。固定後膀胱および前立腺前葉(凝固腺)を切除し、次で前立腺中葉と後葉を分離して重量測定したのち中葉を尿道の軸に対して直角にカミソリの刃をもって二分し、組織ブロックを作成し各々の面より標本を作成し、Hematoxylin-Eosin染色を行なった。

#### 4) Tritium ( $^3\text{H}$ )-Thymidine

The Radiochemical Centre 製  $^3\text{H}$ -Thymidine を日本放射性同位元素協会を通じて購入し、Dithizone 投与後一定時間に  $^3\text{H}$ -Thymidine を  $0.5\mu\text{C/g}$ 。宛腹腔内に注入した。Tritium ( $^3\text{H}$ ) は同位元素の一つであって  $^3\text{H} \xrightarrow{\beta} ^3\text{He}$  式に従って  $\beta$  崩壊を行ない安定ガス  $^3\text{He}$  に変化し、その半減期は12.4年である。 $^3\text{H}$  の  $\beta$  線は  $E_{\text{max}}=0.018\text{MeV}$ ,  $E_{\text{aver}}=0.0057\text{MeV}$ 、と極めて低エネルギーである。

#### 5) Autoradiogram

$^3\text{H}$ -Thymidine 投与2時間後に心穿刺により屠殺し、前立腺中葉を採取し10%ホルマリン液に固定した。次でパラフィンブロックを作り、ミクロトームで切片を作り、この切片をスライドガラス上にのせ、型の如くパラフィンを除去、蒸留水中にて Mounting 操作まで保存した。Stripping film の Mounting は暗室中で安全光下で行ない、Film には Fuji ET 2E Stripping film を使用した。乾板は使用前30分に冷蔵庫より取出し、暗室中に放置しておき、使用直前に  $10^\circ\text{C}$  以下の蒸留水につけておいた。Film の剥離および Mounting は  $10^\circ\text{C}$  以下の1,000ccの蒸留水に KBr 80mg, Glycerin 20cc を溶解した液の中で行ない、乳剤面を下に水の上に浮かせこれを下からすくい上げるようにしてスライドガラス面にかぶせた。Film を Mounting した後スライドガラスを立てかけ水をきり、充分乾燥後暗箱中に乾燥剤と共に入れ、冷蔵庫中に貯蔵しながら露光した。曝射時間は3週間とした。現象は Fuji Rendol 現象液の  $20^\circ\text{C}$  で3~5分間、定着には Fuji Fix を使用し10分間定着し、水洗時間は10時間とし、その後 Hematoxylin による後染色を施した。

#### 6) ホルモン

男性ホルモンとしては Enarmone 水性懸濁液を  $0.5\text{mg/kg}$  体重の割合で毎日3週間、女性ホルモンとしては Ovahormone benzoate 水性懸濁液を  $0.02\text{mg/kg}$  体重を毎日3週間皮下注射により投与した。

#### 7) 前立腺、睪丸、精囊腺の相対重量指数

前立腺は10%ホルマリン液にて固定24時間後中葉のみの重量を測定し、精囊腺は左右精囊内容物を圧出し

たもの、睪丸は一側重量を測定し各々gで現わし、体重1g当りに換算し、これを相対重量指数とした。各臓器重量測定は直示天秤(Shimadzu 定感量式)を使用した。

## 実験成績

### 実験1. ラット前立腺の構造について

膀胱の下部、精囊腺、尿道の起始部を取り囲むラット前立腺は腺葉型の腺単位よりできている。各腺葉の腺腔は導管に連なっていて、この導管は精囊腺の導管、輸精管の終末部、尿道の起始部と共に集束して走り、各々別々に尿道の膨大部 Ampulla に開口している。ラット前立腺は大きく前葉、中葉および後葉に分けられる。後葉は膀胱基底部の腹面にはほとんど全腺遊離して存在し、尿道とは導管をもって結合している。これは左右両側で4個の腺葉より形成されている。中葉は膀胱基底部の背外側に存在し、精囊腺基底部を回埋し、尿道の大部分を囲繞する。この中葉は細かく3つの部分に分けられる。すなわち精囊腺の下部背方にある背葉は5個の腺葉よりなり、側葉は5個の腺葉よりなり、側葉の背方に存在する背側葉は4~5個の腺葉からなる。前葉は凝固腺ともいわれ、本葉を前立腺より除いている人もあり、精囊腺の内側に縦に沿って密に包括されている。組織学的には前立腺は泡状腺の集合からなり、各腺腔は不規則な形態をとり、広い腺腔は大嚢状を呈し、小さい腺腔では管状を呈する。特に背葉では holocrine-type の腺腔を形成し、側葉では apocrine-type の腺腔を形成している。各腺腔の間には間質が存在し、管腔を囲繞する平滑筋の走行が目立つ。腺上皮は広い腺腔壁では低い立方形または扁平状を示すが、一般には一層の円柱上皮からなる。そしてその細胞は基底部に比較的大型の細胞核を有し、細胞質は好塩基性である。腺腔内にはエオジンに淡染する分泌物が充満している腺腔もみられる。この分泌物の充満している腺腔は単純な嚢胞状であり、上皮は扁平化し、やや小型化して細胞質の好塩基性を失う傾向がある。腺組織の連なる排泄管上皮もまた円柱上皮である。

### 実験2. Dithizone 投与後の精囊腺、睪丸、前立腺の肉眼的変化

Dithizone 投与後24時間までの間に実験動物の約60%は死亡した。Dithizone 投与後24時間頃までは呼吸障害と思われる症状を呈し、死亡ラットの胸腔および腹腔内には多量の滲出液が貯溜していた。3日以上延命したラットはその後急速に回復した。Dithizone 投与2~3時間後には尿は red-orange に染り、約48時



間後まで続く、そして24時間後には多数のラットでリリー製テストテープによる尿検査において尿糖が陽性であった。

#### a. 精 囊 腺

Dithizone 投与後の精囊腺の肉眼的変化としては投与3時間後より30日間の観察を行なったが、著明な変化はみられなかった。これをその重量の点から観察すると対照群では平均1.9、投与後24時間では1.9、3日後では1.7、7日後1.6、14日後1.2、21日後1.1、30日後1.2となっており、重量は次第に減少しているようであるが、これをホルモン投与、除率による影響と比べてみると、男性ホルモン投与群では平均2.8、女性ホルモン投与群では平均1.0、去勢群では平均0.5であり、これらホルモン、去勢の影響に比べれば、Dithizone 投与によると思われる重量の減少もさ程著明ではなかった(第1表)。

第1表 Dithizone 投与後の臓器重量の変動

	臓器重量(g)/体重(g)×10 <sup>3</sup>		
	前立腺	睪丸	精囊腺
対 照 群	2.3	7.1	1.9
Dithizone 投与後			
24 時 間	2.4	6.2	1.9
3 日	2.7	6.7	1.7
7 日	2.3	6.3	1.6
14 日	3.0	7.5	1.2
21 日	2.8	7.9	1.1
30 日	2.7	7.3	1.2
男性ホルモン投与群	3.5	8.3	2.8
女性ホルモン投与群	1.0	6.1	1.0
去 勢 群	0.4	—	0.5

#### b. 睪 丸

Dithizone 投与後の睪丸の肉眼的変化は投与後3時間から30日間観察したところでは著明な変化はみられなかった。睪丸の重量についてみると対照群では平均7.1、24時間後では6.2、3日後では6.7、7日後では6.3、14日後では7.5、21日後7.9、30日後では7.3であり、一定の傾向はみられないようであった。男性ホルモン投与群では平均8.3、女性ホルモン投与群では平均6.1であった(第1表)。

#### c. 前 立 腺

Dithizone 投与3時間後から30日間観察したが、肉眼的変化は投与後3～5時間の間にみられたのみであった。すなわちこの間において前立腺の前葉(凝固腺)および後葉では著明な変化はみられなかったが中葉は

赤桃色に染った。特にこの中葉のうちでも側葉は著明な赤色を呈しており、背側葉、背葉は桃色でやや薄く染っていた。これを前立腺重量の点からみると対照群では2.3、Dithizone 投与後24時間では2.4、3日後2.7、7日後2.3、14日後3.0、21日後2.8、30日後2.7であり一定の傾向はみられなかった。これをホルモン投与群の重量と比べてみると、男性ホルモン投与群は平均3.5、女性ホルモン投与群では1.0、去勢群では0.4であり、Dithizone 投与によってはホルモン投与によるほどの重量の変化はみられなかった。

以上 Dithizone 投与後の睪丸、精囊腺、前立腺の重量の変動についてまとめると第1表のごとくなる。

#### 実験3. Dithizone 投与後の組織学的変化

##### a 精 囊 腺

正常ラットの精囊腺は外側より一層の線維性被膜、次で比較的厚い平滑筋層および非常に薄い一層の線維組織があり、内腔に面して一層の高円柱細胞が上皮を形成する。内腔にはコロイド状の大量の分泌物が充満しているのが普通である。Dithizone 投与後いずれの組織標本にも著明な変化はみられなかったし、内腔に存在するコロイド状物質の量の変化もみられなかった。

##### b. 睪 丸

Dithizone 投与3～24時間後では睪丸の間質組織に浮腫がみられた。3～5日後では、間質のコロイド状物質の溜溜、精細胞の核の濃縮、またはこれらの細胞が消失し、セルトリ細胞のみの残存する精細管もみられ、巨大細胞の出現をみる。これらの所見は Dithizone<sup>1</sup>の睪丸組織に対する障害作用と考えられる。

##### c. 前 立 腺

Dithizone 投与後の前立腺の組織学的変化については先ず前葉および後葉について観察したが、これらの各葉では著明な組織学的変化はみられなかった。次で中葉の変化について観察した。

##### A. 側葉および背側葉

###### ① Dithizone 投与3～6時間後

腺上皮細胞の一部に原形質の腫大および空胞形成を認め、核の濃縮もみられる。間質には軽度の浮腫と毛細血管の拡張をみる。

###### ② Dithizone 投与12～24時間後

腺上皮細胞の原形質の腫大、空胞形成、核の濃縮が広範囲にわたってみられ、一部の上皮細胞は腺腔内へ脱落している。

###### ③ Dithizone 投与3～5日後

腺上皮細胞の腺腔内への脱落は著明で多くの腺腔内

には壊死細胞が充満している。間質には好中球の浸潤があり、毛細血管の拡張と共に出血もみられた。間質の線維細胞の核の腫大もみられる。腺腔内に脱落した細胞の一部は核融解を起しており、集合して一塊となってヘマトキシリンに濃染していた。

#### ④ Dithizone 投与 7～14日後

脱落した腺腔内の細胞の核の融解が進行し、これらの物質はヘマトキシリンに濃染し、腺腔内で一塊となっている。一方崩壊した腺腔を中心として間質の線維細胞が増殖し、これが腺腔壁を形成する。この時期の腺腔壁の最内層は内皮細胞様の細胞で形成されており、正常の円柱細胞よりなる腺上皮はみられない。増殖した線維細胞により形成されたと思われる腺腔壁は一部では扁平上皮化生を示すようである。

#### ⑤ Dithizone 投与 21～30日後

不規則な彎曲を呈する腺腔よりなる前立腺組織の再生がみられる。間質の線維性細胞の増殖はほとんどみられず、多くの部分で組織学的に正常像を示している。

### B. 背 葉

側葉および背側葉と同様腺上皮の脱落、崩壊がみら

れたが、この変化は一部の腺腔にみられたのみで背葉全体にわたる変化はみられず、崩壊した腺腔が散在してみられた。

#### 実験 4. 前立腺腺腔壁における DNA 合成

作成した前立腺中葉の Radioautogram についてその腺腔壁における  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みについて観察した。 $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みのみられる細胞としては腺上皮細胞がほとんどであって間質細胞への取り込みはほとんどみられなかったので前立腺上皮細胞のみを取りあげ 1,000 個の上皮細胞中何個の細胞に取り込みがみられるかを算出したが、その際典型的な組織像を示す標本上の数カ所を選択し各部位の取り込みのみられる細胞を数えこれを平均している。なお、粒子の数については 4 個以上の粒子のある細胞を取り込みのある細胞としてそれ以下の粒子は background とした。

前立腺中葉の側葉、背葉、背側葉の各々についてその上皮細胞の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みは側葉では平均 8 個の細胞に取り込みがみられ、背葉では平均 8 個、背側葉 10 個であり、正常前立腺の場合の上皮細胞の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みについてはこれらの各

第 2 表 ラット前立腺中葉における  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込み

$(\times \frac{1}{10^3})$

Rat No.		1	2	3	4	5	Mean
Lobes							
Lateral lobe		8	6	10	14	6	8
Dorsal lobe		13	8	5	12	6	8
Dorsolateral lobe		14	6	11	8	11	10
Total		35	20	26	34	23	26

第 3 表 前立腺中葉の  $^3\text{H}$ -Thymidine 取り込みと銀粒子数

$(\times \frac{1}{10^3})$

Rat No.	Grain counts				Rat No.	Grain counts					
	Lobes		4~10	11~20		21~	Lobes		4~10	11~20	21~
6	Lateral	Cell counts	4	7	3	7	Lateral	Cell counts	3	3	0
	Dorsal		5	6	1		Dorsal		3	2	3
	Dorsolateral		2	4	2		Dorsolateral		4	2	0
8	Lateral	Cell counts	2	7	1	9	Lateral	Cell counts	4	7	3
	Dorsal		2	3	0		Dorsal		5	6	1
	Dorsolateral		4	6	2		Dorsolateral		2	4	2
10	Lateral	Cell counts	4	2	0	平均	Lateral	Cell counts	3.2	4.4	1.2
	Dorsal		2	4	0		Dorsal		3.4	4.2	1.2
	Dorsolateral		3	6	2		Dorsolateral		4	4.8	1.2

葉の間に著明な差異はみられなかった（第2表）。

次に  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みのみられた細胞数とその取り込みのみられる1個の細胞の粒子数の関係についてみると、第3表のごとくである。側葉では粒子数4～10個の細胞が平均3.2個、粒子数11～20個の細胞は4.4個、粒子数21～30個の細胞は1.2個であった。背葉では粒子数4～10個の細胞が3.4個、粒子数11～20個の細胞4.2個、粒子数21～30個の細胞は側葉と同様1.2個であった。背側葉では粒子数4～10個の細胞は4個、粒子数11～20個の細胞4.8個であり、粒子数21～30個の細胞は1.2個であった。従って各葉の間の取り込みのみられた細胞での粒子数の差はみられず、大部分の粒子数は4～20個までであった。

実験5. Dithizone 投与後の前立腺腔壁における DNA 合成の変動

Dithizone 投与後の前立腺腔壁における  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みについては既述のごとく

Dithizone 投与による前立腺上皮の障害は側葉を中心として起ることを知ったので、側葉における取り込みの変化を観察した。

#### ① Dithizone 投与3～24時間後

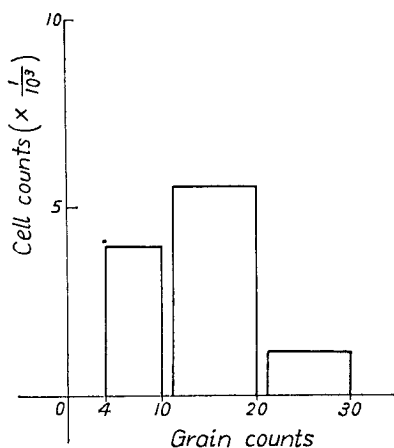
組織学的には腺上皮細胞の原形質の腫大、空胞形成、核の濃縮等の他に一部の上皮細胞では腺腔内への脱落がみられるが、 $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みの状態は第4表、第1図のごとくで、平均粒子数4～10個の細胞が4個、11～20個の粒子数の細胞は5.6個、21以上の粒子数の細胞は1.2個であり、大体無処置群の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みとさほどの差はみられない。

#### ② Dithizone 投与3～5日後

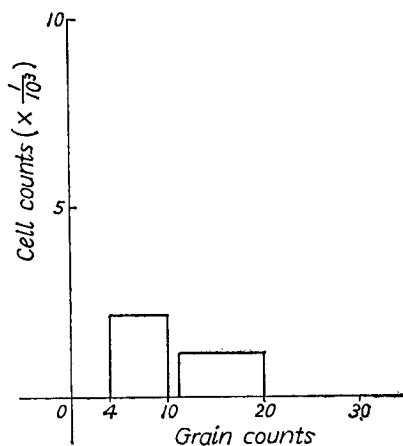
組織学的には腺上皮の脱落、崩壊の著明な時期であるが、 $^3\text{H}$ -Thymidine の腺腔壁における取り込みは第5表、第2図のごとくで、平均粒子数4～10個の細胞数は2.2、11～20個の粒子数を有する細胞は1.2個で、

第4表 Dithizone 投与3～24時間後の側葉における  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数

Rat No. Grain counts						Mean ( $\times \frac{1}{10^3}$ )
	11	12	13	14	15	
4 ~ 10	3	2	2	6	7	4
11 ~ 20	3	3	7	8	7	5.6
21 ~ 30	0	2	2	2	0	1.2
Total	6	7	11	16	14	10.8



第1図 Dithizone 投与3～24時間後の  $^3\text{H}$ -Thymidine 取り込みと銀粒子数



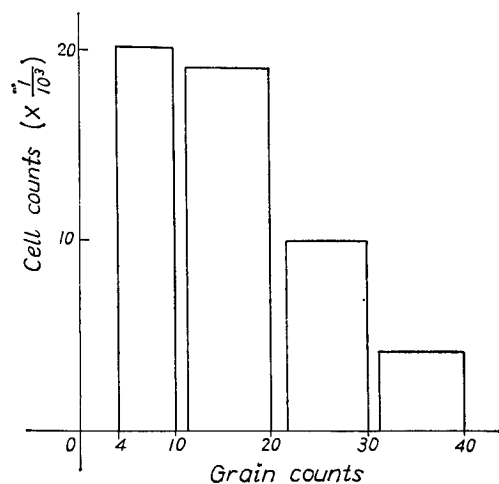
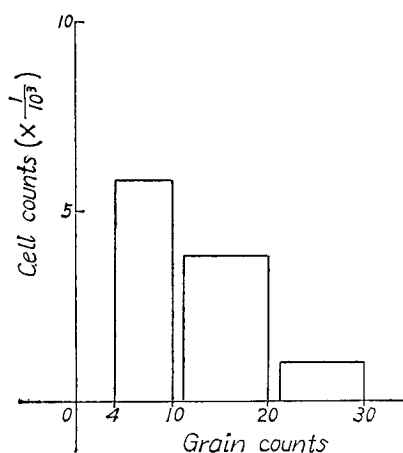
第2図 Dithizone 投与3～5日後の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数

第 5 表 Dithizone 投与 3 ～ 5 日後の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数 $(\times \frac{1}{10^3})$ 

Rat No.	16	17	18	19	20	Mean
Grain counts						
4 ～ 10	2	3	1	1	4	2.2
11 ～ 20	1	0	2	1	2	1.2
21 ～ 30	0	0	0	0	0	0
Total	3	3	3	2	6	3.4

第 6 表 Dithizone 投与 7 ～ 14 日後の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数 $(\times \frac{1}{10^3})$ 

Rat No.	21	22	23	24	25	Mean
Grain counts						
4 ～ 10	29	20	22	21	25	23.4
11 ～ 20	20	20	21	24	11	19.2
21 ～ 30	4	6	10	15	15	10
31 ～ 40	2	3	4	6	6	4.2
Total	55	49	57	66	57	56.8

第 3 図 Dithizone 投与 7 ～ 14 日後の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数第 4 図 Dithizone 投与 21 ～ 30 日後の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数

第 7 表 Dithizone 投与21～30日後の  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みと銀粒子数 $(\times \frac{1}{10^3})$ 

Rat No.	26	27	28	29	30	Mean
Grain counts						
4 ~ 10	4	12	2	3	8	5.8
11 ~ 20	2	3	5	3	6	3.8
21 ~ 30	0	1	2	0	2	1
Total	6	16	9	6	16	10.6

粒子数21個以上の細胞はみられなかった。この時期では  $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みは著明に減少し、同時に取り込みのみられる細胞の粒子数も減少し20個以上の粒子数をもつ細胞は見出されなかった。

### ③ Dithizone 投与7～14日後

組織学的にこの時期には崩壊した腺腔を中心として間質の線維細胞が増殖してこれが腺腔壁を形成している。 $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みはここに至り急速に増加する。すなわち第6表、第3図のごとくである。 $^3\text{H}$ -Thymidine を取りこんだ細胞数は平均56.8個となり、粒子数4～10個の細胞数23.4個、粒子数11～20個の細胞数19.2、粒子数21～30個の細胞数10、31～40個の粒子数の細胞は4.2個であった。

### ④ Dithizone 投与21～30日後

組織学的には大体正常組織像を示すようになっている。 $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込みについては第7表、第4図のごとくである。すなわち平均粒子数4～10個の細胞数5.8、11～20個の粒子数の細胞は3.8個、21以上の粒子数の細胞は1個で、全体として取り込みのみられる細胞数は10.6個であった。

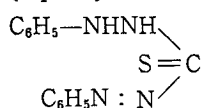
## 考 按

動物が生活していく上に亜鉛がその栄養という点で欠くことの出来ない因子であることは Todd (1934)<sup>16)</sup>、Stirn (1935)<sup>17)</sup> 等によって証明されており、Vallee (1951)<sup>18)</sup> はラットで食餌中の亜鉛の欠亡により異常角化の発生、脱毛、致死をみることを、Duncan (1953)<sup>19)</sup> は過剰の亜鉛の摂取により貧血、栄養障害の発生することを報告している。最近では dehydrogenase<sup>20) 21) 22) 23) 27)</sup>、carboxypeptidase<sup>24)</sup>、urease<sup>26)</sup>、alkaline phosphatase、carbonic anhydrase<sup>25)</sup> 等の酵素反応における亜鉛の関与が明

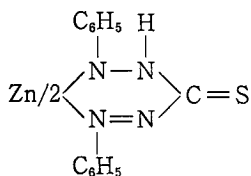
らかとなって、その重要性が認識されると共に腫瘍と亜鉛代謝、内分泌機能と亜鉛の関係等各種の研究がなされている。前立腺と亜鉛との関係については先ず Bertrand & Vladesco (1921)<sup>4)</sup> の報告が上げられる。彼等は牛の前立腺において亜鉛の含有量が高く、生殖における亜鉛の演ずる役割について論じた。その後 Mawson & Fischer (1951, 1952, 1955)<sup>5) 6) 7) 28)</sup> はラットの全身各臓器に含まれる亜鉛量を測定し、前立腺中葉に最も亜鉛は多量含まれていることを述べ、また中葉の中でも特に lateral portion に亜鉛が豊富であることを指摘した。Gunn & Gould (1957)<sup>29) 30)</sup> は放射性亜鉛 ( $^{65}\text{Zn}$ ) を使用してラット前立腺の背側葉 dorsolateral prostate が  $^{65}\text{Zn}$  を選択的に摂取するが、この中でも特に lateral tip に多く摂取されることを見出すと共にこの  $^{65}\text{Zn}$  の摂取が各種ホルモンの影響を受けるとしている。Prout (1957)<sup>11)</sup> は犬に前立腺瘻を形成し、前立腺分泌液中の  $^{65}\text{Zn}$  の排泄について検索している。Rixon & Whitfield (1959)<sup>31)</sup> は前立腺上皮細胞中における亜鉛の存在について、Millar & Mawson (1961)<sup>32)</sup> も Autoradiography により前立腺における亜鉛の存在を検索し、亜鉛が前立腺上皮細胞中に限局して存在することを見出している。臨床的には Mawson & Fischer (1952)<sup>6) 7)</sup>、Hoare et al. (1956)<sup>33)</sup>、Brendler (1956)<sup>34)</sup>、Prout et al. (1959)<sup>12)</sup> 等により前立腺炎、前立腺肥大症、前立腺癌等の際における前立腺亜鉛量の測定成績が報告されている。本邦においても前立腺と亜鉛の関係については白川

(1961)<sup>35)</sup>、林 (1961)<sup>36)</sup> 等の実験的および臨床的報告がみられ、最近では教室の平山 (1964)<sup>37) 38) 39)</sup> は前立腺亜鉛代謝に関する実験的研究として、性ホルモンの影響、亜鉛試薬の影響、前立腺実験腫瘍について等の報告をしているし、前田 (1966)<sup>40)</sup> の報告もみられる。この様に前立腺における亜鉛の存在意義については多くの報告がみられるものの不明の点が多い様であるが、この亜鉛存在を利用することにより1941年 Huggins 一派の始めた抗男性ホルモン療法<sup>41)</sup> が治療の主流をなしているが、そのみでは完全治療を期待することは不可能である前立腺癌の化学療法に新しい方法を見出し得るのではないかと考えて、私は先ず実験的にラットに Dithizone を投与してその前立腺に対する影響を主として前立腺中葉を中心として観察した。

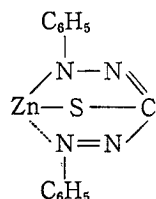
Dithizone (diphenyl-thiocarbazone) は



なる構造式をもち、外形は黒色または黒褐色の粉末である。その溶解性は有機溶媒に可溶（アルコール、クロロホルム、四塩化炭素）、アルカリ溶液に可溶であるが、水および稀酸には不溶である。亜鉛とは 1 : 1,000,000 で反応し、紫紅色（紅色）の沈澱をするが、このものは



または



なる構造式をもつ。亜鉛と類似反応を呈するものに Ag, Hg, Pb, Cu, Co, Ni, Cd 等がある。この Dithizone の亜鉛との鋭敏なる反応を利用して1942年岡本<sup>1)</sup> は組織の亜鉛の証明法とし

て Dithizone を用いる方法を報告した。Mc Nary (1954)<sup>42)</sup> は Dithizone により、ランゲルハンス氏島の亜鉛を組織化学的に証明しているし、Rixon & Whitfield (1959)<sup>31)</sup> はラット前立腺における亜鉛の存在を同様の方法で証明した。門田 (1950)<sup>3)</sup> は家兎に Dithizone を投与すると脾臓ラ氏島の亜鉛と直接反応し、糖尿病を発症せしめることを証明し、岡本 (1949)<sup>2)</sup> も脾臓のラ氏島には亜鉛が多く含まれており、従って亜鉛とよく反応する物質を与えた場合、もしそのものが細胞に対して毒性をもっていればラ氏島β細胞は障害をこおひり、よく糖尿病を発症せしめうるのであらうと考え、Dithizone, Quinoline 誘導体等により実験的糖尿病の発症に成功し、糖尿病亜鉛説をとらえた。前立腺の亜鉛もかかる観点から考えてみると非常に興味がある。即ち亜鉛とよく反応する物質を血中に与えたとこのものは前立腺細胞内の亜鉛と速やかに確実に反応しうるはずである。そしてその反応が鋭敏であり、或程度そのものが毒性をもっていれば前立腺細胞に対して機能的に或程度障害作用を与えるはずである。従って前立腺細胞のみならず、前立腺癌細胞に対しても当然亜鉛とよく反応する物質のあるものは障害的に作用するものと予想される。翠川 (1955)<sup>14)</sup> はラットに Dithizone を投与し経過を追って前立腺内の亜鉛の消長を調べ、2～3時間頃より著しくその反応の減弱することを認めているし、また Lo, Hall & Whitmore (1960)<sup>43)</sup> は雄性成犬に Dithizone を投与した際その前立腺分泌液は著明に減少した組織学的にも前立腺組織の崩壊のみられることを報告しており、これらの事実を Mc Donald (1960)<sup>44)</sup> および Mackenzie (1964)<sup>45)</sup> は着目して前立腺癌の治療に応用し、効果のみられた事実を報告したが、貧血、および消化器症状等の副作用の現われる点より考えて、臨床的な使用は期待できないと述べている。最近では前田 (1966)<sup>40)</sup> もまたラットに亜鉛キレート剤を投与して全例に前立腺亜鉛量の減少を認め、また前立腺の組織変化については Dithizone, l-Histidine, クエン酸ナトリウム, Oxine, Nitroso-R-salt の順に組織に

障害を与えるが、Dithizone, Oxine は副作用が強くて人体使用は不可能であるとしている。Dithizone 投与後前立腺の肉眼的変化としては3～5時間後において前葉（凝固腺）および後葉には著明な変化はみられないが、中葉は赤色に染る。中葉のうちでも側葉は鮮紅色を呈しており Logothetopoulos (1960)<sup>46)</sup> はこの様な状態を Magenta red に染ると表現している。そして彼はこの時期の組織を暗視野装置を用いて側葉および背側葉の腺上皮の基底部に濃縮した微細顆粒が充満しているのを観察しているが、間質および腺腔内には変化を認めていない。McDonald (1960)<sup>44)</sup> によると Dithizone 投与後の内分泌器官その他実質臓器の肉眼的変化はみられないとしている。私も睪丸および精囊腺について前立腺以外にも観察したが、これらには肉眼的変化を見出し得なかった。Dithizone 投与後の前立腺、睪丸、精囊腺の重量の変化を24時間後より30日間にわたって測定したが前立腺、睪丸、精囊腺共に対照群に比べ一定の重量の変化を認めなかった。試みにこれを男性ホルモン、女性ホルモン投与、去勢の際の前立腺、睪丸、精囊腺の重量の変化と比べてみたが、Dithizone の投与によるこれら各臓器の重量の変化はホルモンの影響ほど著明な変化を示さなかった。しかし、McDonald (1960)<sup>44)</sup> はラット前立腺のすべての腺葉に著明な萎縮を認め、精囊腺では大量投与に際してのみ萎縮性変化をみているし、平山 (1964)<sup>38)</sup> は前立腺背側葉のみの重量では Dithizone 投与24時間後では略々対照値であったが漸次減少する傾向があると述べている。Logothetopoulos (1960)<sup>46)</sup> は Dithizone 投与後にみられるラットの全身状態の変化として投与6～20時間後に呼吸障害と胸腔内への滲出液の貯溜を認め実験動物の70%は死亡したと述べているが、私の実験でも Dithizone の投与方法は異なるが、やはり同様の全身痙攣、呼吸障害、胸腔内、腹腔内への滲出液の貯溜をみ約60%のラットは投与後24時間内に死亡した。また投与2～3時間後より尿がオレンジ色に着色して、24時間後には多くの例でテストテープによる尿検査において尿糖が陽性で

あった。Philips (1961)<sup>47)</sup> は Dithizone による急性中毒死の原因として中枢神経系の障害を上げている。岡本 (1949)<sup>2)</sup> によれば Dithizone 投与24時間後より糖尿病が現われ48時間後ではこれがさらに増強するとしている。Dithizone 投与後前立腺の組織学的変化としては前葉（凝固腺）および後葉では変化はみられず、中葉に組織の変化を認めた。即ち中葉のうちでも側葉および背側葉では Dithizone 投与12～24時間後頃から腺上皮細胞に変化が現われ、3～5日後では腺上皮細胞の脱落、崩壊が著明となり、腺腔内に壊死細胞が充満し、間質には好中球の浸潤出血等をみた。7～14日後には再生がみられた。即ち崩壊した腺腔を中心として間質の線維細胞が増殖し、腺腔壁を形成する。そして3週～1ヵ月後にはほぼ正常組織像を示す様になった。背葉でも同様の変化がみられたが、一部の腺上皮細胞に限られた変化であった。Logothetopoulos (1960)<sup>46)</sup> もラットに150～200mg/kg の Dithizone 投与後の前立腺の変化を組織学的に検索しており、3時間後より変化を認め、6時間後には核の濃縮、12時間後から腺上皮細胞の脱落、崩壊を、2～5日後には腺腔内の上皮細胞の核融解、貪食細胞の出現、内皮細胞様の細胞出現があり、15日後から再生がみられ、1ヵ月ではほぼ正常組織に回復しており、私のみたと同様これらの前立腺上皮細胞の障害の程度は側葉、背側葉において著しく、背葉では一部の腺上皮細胞にのみ変化が見られたとしている。同時に彼は O-Aminobenzoic acid, 8-Hydroxyquinoline, 2-Quinoline-carboxylic acid による変化をみているが、これらの物質による前立腺上皮細胞の障害はみられなかったと述べている。平山 (1964)<sup>38)</sup> の報告では側葉の腺上皮は2日後に剥離し始め、日を経るに従ってこの剥離現象は強くなり、4日で剥離した上皮が腺腔内に充満し、5日以後には剥離した細胞は壊死状態となり円形細胞、白血球の浸潤を認めている。電子顕微鏡を使用して Dithizone 投与後のラット前立腺上皮細胞の観察を行なった Schrodtt (1963)<sup>48)</sup> によれば、変化はすでに投与20分後からみられ3時間以内に著明な変化を細

胞内に認めている。Dithizone 投与後前立腺以外の臓器にみられる組織学的変化としては、McDonald (1960)<sup>44)</sup> はラットでは肝、脾で Iron pigment の量が増加していたが、睪丸、下垂体、甲状腺、副腎、脾臓、網膜は変化がなかったとしている。家兎の脾臓の変化として門田 (1950)<sup>3)</sup> は Dithizone 投与2時間後よりラ氏島 $\beta$ 細胞に変化がみられ、8時間後には $\beta$ 細胞の壊死が現われ、以後 $\beta$ 細胞の破壊が進行し、8日後にはラ氏島の数と大きさは減少し、壊死細胞は吸収され、 $\alpha$ 細胞と線維組織のみから構成されるとし、その他肝ではグリコーゲンの減少とグリソン氏鞘の脂肪沈着をみたがその他には変化を見出していない。Dithizone 糖尿病ラットの甲状腺機能について論じた永井 (1963)<sup>49)</sup> によれば Dithizone 糖尿病群のラットの甲状腺の組織像では甲状腺濾胞は一般に大きく、濾胞上皮が低く濃染するコロイドを多量に含むいわゆる機能低下の像を認めている。私は前立腺以外に睪丸、および精囊腺について組織学的に検索したが、一部のラットの睪丸において Dithizone 投与3～24時間後から間質組織の浮腫をみると共に3～7日後には間質へのコロイド状物質の蓄溜、精細胞の消失、巨大細胞の出現等の変化をみたが、精囊腺には著明な変化を見出し得なかった。睪丸の組織障害に際して出現する巨大細胞については旧くより諸説があるが、山本 (1961)<sup>50)</sup> は実験的睪丸障害の研究で抗腫瘍剤、アイソトープ使用の際に出現が多く、この出現については精細胞の崩壊過程におけるより再生過程にある一現象とみた方がよい様に思われると述べ、可成り高度の睪丸障害にみられる変化であるが、障害がさらに進めば遂に消失するに至るとしている。次に Dithizone が前立腺上皮細胞に対して既述した如き障害作用をおよぼすその機序について考えてみると、現在のところ前立腺上皮細胞に含まれている亜鉛との親和性を有することが重要点とされている。即ち門田 (1950)<sup>3)</sup> は Dithizone が Diabetogenic agents の一つであることを報告した際この Diabetogenic action は Dithizone のもつ Chelating potential<sup>51) 52) 53)</sup> によるもので

あると報告している。また1952年 Wolff<sup>54)</sup> は Dithizone 糖尿病の成立について追試確認したとき、Dithizone 注射直後のラ氏島を検索して、 $\beta$ 細胞に赤色顆粒を認め、さらに Wolff<sup>55)</sup> および Maske<sup>56)</sup> はこれが Zinc-dithizonate にほかならないことを証明して、糖尿病発症の際 Dithizone が Chelating agent として作用することを明らかにした。Mackenzie (1962)<sup>57)</sup> は前立腺の亜鉛は主としてその上皮細胞に由来することから、この上皮細胞への Dithizone の選択的作用は Dithizone の亜鉛との親和性によるものであり、Dithizone の投与による前立腺の組織学的変化の起り方が投与前の組織のもつ亜鉛量によって影響されることを指摘している。Logothetopoulos (1960)<sup>46)</sup> もまた Mawson (1951, 1952, 1955)<sup>5) 6) 7)</sup> によって示された前立腺が高濃度の亜鉛を含むという事実に基づいて Dithizone が Zinc-chelating agent であると考え、前立腺の上皮細胞に対して選択的な細胞毒として作用することを期待して実験を行なっている。Philips (1961)<sup>47)</sup> はラットに Dithizone を投与したとき、前立腺後葉では Dithizone の濃度が循環血液中の濃度より低いが、中葉では血液以上に高濃度に蓄積、沈着し、Dithizone の濃度は後葉 0.03 (mg/gm dry weight) < 背葉 0.32 < 側葉 1.75 であり、中葉の四塩化炭素による抽出物中に Zinc-dithizonate を検出している。Schrodt (1963)<sup>48)</sup> は Dithizone が前立腺上皮細胞に対して作用するとき起りうる変化として①亜鉛が Zinc-containing compounds からうばわれる。②Zinc-dithizonate が形成される。この2点を上げ、これらの一方または二つが細胞損傷を起すであろうと考え、また細胞膜における亜鉛の存在および欠如についても着目している。Lo (1960)<sup>43)</sup> は Dithizone の前立腺上皮細胞に対する正確な作用の機序は不明であるが、Fujii (1954, 1955, 1956)<sup>58) 59) 60) 61)</sup> が亜鉛の存在が細胞分裂に際し重要な働きをもつと述べていることおよび Quastel & Bickis<sup>43)</sup> がラット前立腺および肝の蛋白合成に対する Metal-chelators の影響をみたとき使用した Metal-chelators の中では Dithizone が最も作用が強く



力であったと述べている点に注目し、Dithizone 投与による組織学的変化発生の原因をこれらの点に求めている。私の実験では Dithizone 投与後組織学的に前立腺前葉および後葉では変化は全くみられず、中葉に変化をみたが、その中でも側葉および背側葉で著明な前立腺上皮細胞の脱落、崩壊をみたのである。また睾丸では軽度の組織学的変化をみたが、精囊腺では全く変化を認めていない。これを諸家の前立腺亜鉛についての報告と比べてみると興味深い。即ち岡本(1942)<sup>62)</sup>はラット前立腺中葉の腺細胞に、翠川(1952)<sup>15)</sup>は中葉に亜鉛は存在し、前葉には認めていない。Mawson (1951)<sup>5)</sup>はラットの各臓器の亜鉛量を測定し、精囊腺 $22.1 \pm 2.64$  ( $\mu\text{gm}/\text{gm wet weight}$ ) 中葉 $180.8 \pm 45.5$ 、後葉 $13.7 \pm 3.24$ 、睾丸 $28.9 \pm 1.84$ 、凝固腺 $25.0 \pm 8.47$ なる結果を得ている。Gunn (1957)<sup>29) 30)</sup>は $^{65}\text{Zn}$ の摂取が前立腺中葉ことにその側葉で極めて多いことを、林(1961)<sup>36)</sup>は $^{65}\text{Zn}$ を投与したとき24~96時間迄は前立腺中葉では明らかに $^{65}\text{Zn}$ の選択的摂取がみられこれに反して前葉、後葉では $^{65}\text{Zn}$ の選択的摂取はみられないとしている。平山(1964)<sup>37) 38)</sup>もまた同様の結果を得ている。諸家の報告から考えて、ラット前立腺腺中にその中葉は最も亜鉛の含有量の多い臓器であることは明白な事実といえる。そして私の実験において Dithizone 投与後の前立腺の組織学的変化をみたとき、この部位において組織障害の程度が顕著であったのであるから Dithizone の前立腺上皮細胞に対する作用機序とその上皮細胞中に含有される亜鉛との関係は切りはなせないことが解る。そして睾丸においても軽度ながら精細胞の障害がみられたことも、その亜鉛の存在よりみれば理解される。

次に Dithizone 投与前後における前立腺腺腔壁の DNA 合成能の変化を知るために Tritiated thymidine を使用して Radioautogram を作成して観察した。Tritium ( $^3\text{H}$ ) は同位元素の一つであって、 $^3\text{H} \xrightarrow{\beta} ^3\text{He}$ 式に従って $\beta$ 崩壊を行ない安定ガス $^3\text{He}$ に変化し、その半減は12.4年であって著しく長い。 $^3\text{H}$ の $\beta$ 線は $E_{\text{max}}=0.018\text{MeV}$ 、 $E_{\text{aver}}=0.0057\text{MeV}$ と極

めて低エネルギーであって、 $^3\text{H}$ の Radioautography への導入はこの低エネルギーの $\beta$ 線と微粒子の Stripping type film との組合せによって従来その研究目的にしたがってアイソトープを単体としてまたは標識化合物として生物に与え、その種類も $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{45}\text{Ca}$ 、 $^{59}\text{Fe}$ 、 $^{65}\text{Zn}$ 、 $^{74}\text{As}$ 、 $^{86}\text{Sr}$ 等種々なものが使用されて来たが、いずれも臓器組織レベルのまたはそれより大きな Radioautography であったものが単細胞レベル或はそれ以下の細胞内部構造のそれへ精度を上昇せしめることを可能にしたのである。即ち一般の $\beta$ 粒子は唯1個の通過で潜像を作ることとは少なく、何回かの通過によりイオン化エネルギーが蓄積されて初めてハロゲン銀粒子に潜像を生ずる。 $^3\text{H}$  $\beta$ 粒子は極く低エネルギーであり、そのエネルギーの約90%は唯1個の銀粒子によって吸収され、2個以上の銀粒子に作用することは少ない。また1個の $\beta$ 粒子は平均0.85個の銀粒子に潜像を形成し、このことは $^3\text{H}$ -Microautoradiogram の定量的分析が可能となる基礎となっている。そして $\beta$ 粒子の Microautoradiography ではエネルギーの低いアイソトープ程解像力の良いものが得られるので、 $^3\text{H}$ を利用すれば0.5~1ミクロン程度の解像力は充分得られるが、さらにこれを電子顕微鏡的技術と組合せれば、0.3~0.5ミクロンと上昇させることができ、Golgi 装置、糸粒体等の微細構造を対象とした研究も行なうことが出来る<sup>63)</sup>。  $^3\text{H}$ は水素の同位元素として、生体に必須不可欠なあらゆる水素化合物—例えば、核酸、蛋白質、糖類、ホルモン、酵素並びにこれらの構成要素—の水素と置換しうるので標識化合物の種類も無限でありその応用範囲も測り知れないものがある。Autoradiogram 法の基礎は放射性同位元素から放射される放射線および放射粒子が光と同じ方法で写真乾板に作用するということであるが、人工放射性同位元素を用いて得られた最初の Autoradiogram は1938年に Bulliard, Grundland & Moussa<sup>64)</sup>によって副腎の phosphatid 中への $^{32}\text{P}$ の取り込みを示す研究で得られ、次で1940年 Hamilton, Soley<sup>65)</sup>等の $^{131}\text{I}$ による甲状腺の Autoradiogram が得

られたが以後 Autoradiography 法の発展は急速である。そして 1955 年 Hughes<sup>66) 67)</sup> によって  $^3\text{H}$ -Thymidine の合成がなされ、先に述べた如く、その高い解像力と多数の  $^3\text{H}$ -標識化合物の利用によって従来の組織レベル乃至は細胞レベルの病理学、組織化学から一躍細胞下レベル即ち電子顕微鏡レベルの病理学、組織化学への飛躍を可能としたのである。 $^3\text{H}$ -Thymidine は DNA 前駆物質であり、選択的に DNA—核染色体—に合成されるので、その応用により細胞レベルにおける合成能（細胞分裂能）の有無如何を Autoradiogram 上の感光銀粒子の有無、粒子数によって知り得るのである<sup>85) 86) 87) 88) 89)</sup>

そして細胞の Generation time の測定および分析<sup>85)</sup>、遺伝学における応用として分離の法則、染色体交叉の実証<sup>90)</sup>、臨床方面の応用としては正常人の末梢血液中に DNA 合成能力がある単核細胞の証明およびその臨床的意義の解明または白血病の如き悪性腫瘍細胞の増殖機序の解明、膀胱腫瘍の悪性度の決定、放射線効果の判定、化学療法剤の効果判定<sup>91) 92) 93) 94)</sup>、DNA 合成に関する放射線、他の Radiomimetica および各種薬剤の影響、並びにその際の作用点の解明、DNA 合成機序の研究等<sup>95) 96) 97) 98)</sup> 各方面に利用され劃期的な成果を収めつつある<sup>68)</sup>。Radioautogram 作成に際して津屋 (1961)<sup>68) 69)</sup> は細心の注意をしてもし過ぎるということはないとし、乳剤に対して機械的な圧迫や、熱、洩光等を避けるべきは勿論であるが、film base から emulsion をはがす時の静電気、水中の不純物などにも細心の注意が欲しいと述べている。Levi 等 (1956)<sup>70)</sup> によれば Back ground を 1 細胞当り 1 とした場合、統計学的に感光銀粒子が 4 以上の場合標識されたと判定して良いことが知られている。私は 4 以上を限界とし、3 以下を Back ground と判定した。Pelc (1959)<sup>71)</sup> は Grain counting を行ない得る標本の条件として次のことを上げている。①現像が適正であること。現像不足であると銀粒子が小粒となり観察が著しく困難となる。②銀粒子数は 25~30 個以下が適当で、しからざれば細胞の識別が不可能となる。ただし細胞識別を要しな

い場合はこの限りではない。③染色は少し薄目の方が銀粒子と判別し易い。④Back ground は 1 細胞当り 1 個以下であること。Rubini の研究によれば細胞内での DNA 合成は非常に短時間で行なわれ、細網内皮系の未熟細胞のあるものでは注射後 1 分ですでに Radioautogram によって  $^3\text{H}$ -Thymidine が DNA に合成されることが示されている。それ故に in vivo, in vitro のいずれの場合も標本を採取固定する迄の時間は 15~30 分あれば十分と思われると津屋 (1961)<sup>68)</sup> は述べている。前立腺の場合教室の数田 (1966)<sup>72)</sup> によれば、上皮細胞核への標識は 30 分前後で初まり徐々に増加して来る。しかし平均粒子数をみると 1 時間値まで増加、1 時間値と 2 時間値がほとんど変わらず、6 時間値より減少しているのが解る。2 時間迄は DNA を合成する細胞に  $^3\text{H}$ -Thymidine が取込まれるが、6 時間以後はその細胞が分裂を開始するためと思われるという。従って私は  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与後 2 時間にて標本を採取している。 $^3\text{H}$ -Thymidine の使用量が多いと  $^3\text{H}$  の核内  $\beta$  線照射により核分裂が障害される恐れがある。即ち  $^3\text{H}$ -Thymidine は細胞核の染色体中に取り込まれそこで  $\beta$  線の細胞内照射が行なわれるために生体に somatic な障害のみならず genetic な障害を与え、これが大きな問題となる。Johnson (1959)<sup>73)</sup> は  $1.0\sim 1.5\mu\text{c/g}$  以下の使用量では睾丸精祖細胞に対しても  $^3\text{H}$ - $\beta$  放射線による悪影響をおよぼさないことが確かめられているが、Brookhaven National Laboratory の最近の報告によれば、従来使用されて来た  $1\mu\text{c/g}$  の  $^3\text{H}$ -nucleoside 量は大量すぎ、細胞分裂に障害を来し、正常分裂機序を観察するには不適當であると報告しており、津屋 (1961)<sup>68) 74) 84)</sup> も in vivo の場合では通常静注または腹腔内投与が行なわれ  $^3\text{H}$ -Thymidine の投与量は  $0.5\sim 1.0\mu\text{c/g}$  が適当であるとしている。私は以上述べた点に注意して実験を行なった。即ち  $^3\text{H}$ -Thymidine 投与量は  $0.5\mu\text{c/g}$  とし、腹腔内に投与した。投与後 2 時間で標本を採取し固定し、Stripping film の Mounting 操作は安全光下  $10^\circ\text{C}$  以下の蒸溜水中にて行なった。作成

した標本については4個以上の銀粒子のある細胞を $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込み Incorporationのある細胞とし、それ以下の粒子は Backgroundとした。その結果前立腺中葉のうち側葉、背葉、背側葉の各々についてその上皮細胞の $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みの状態をみたが、各葉の間には著明な差は見出されなかった。そして取り込みのみられた細胞の大部分の銀粒子は4~20個迄であった。次にDithizone投与後の前立腺腺腔壁における $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みの状態は組織学的に前立腺上皮細胞の脱落、崩壊のみられる時期には細胞への $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みは著明に減少し、同時に銀粒子数も減少し、腺腔壁の崩壊後その再生のみられる時期に一致し、 $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みは急激に増加すると同時に各々の細胞の銀粒子数も増加の傾向がみられた。松井(1965)<sup>75)</sup>は悪性腫瘍の $^3\text{H}$ -Thymidine、 $^3\text{H}$ -Cytidineの Labeling indexを求め、細胞分裂能および蛋白合成能を示す指標として、さらにこれにより放射線照射量と核酸合成阻止率との関係を求めているが、大量照射により組織学的に核の濃染や Fragmentation, Chromatolysisのみられる場合 $^3\text{H}$ -Thymidineの腫瘍細胞の取り込みは全くみられず、比較的低線量照射により核の崩壊, Chromatolysis, 原形質の小顆粒の出現, 空胞変性をみるとき多少の取り込みをみたとし、放射線による Labeling indexの低下の機序としては放射線照射による核酸合成阻止作用<sup>76) 77)</sup>、核酸構成の異常や<sup>78) 79) 80)</sup>、さらにその代謝異常<sup>81) 82)</sup>或いはDNA合成期の相対的減少<sup>83)</sup>等が考えられると述べている。私の実験でもDithizone投与後前立腺腺腔壁の崩壊がみられたときの上皮細胞への $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みの減少および銀粒子数の減少がみられたことから考えると、Dithizoneの前立腺上皮細胞に対する作用機序は、放射線による Labeling indexの低下機序と同様、Dithizoneの亜鉛を介しての核酸合成阻止作用、核酸構成異常、核酸代謝異常、DNA合成期の相対的減少等が推察されるのである。

## 結 語

旧くより前立腺には多量の亜鉛が含有されているとの多数の報告がみられる。私は Zinc-chelating agentの一つであるDithizone 200 mg/kg 体重をラットに投与することにより、その前立腺および睪丸、精囊腺の変化を観察すると共に、 $^3\text{H}$ -Thymidineを使用し Radio-autogramを作成して、Dithizone投与後の前立腺腺腔壁におけるDNA合成の変動についても観察し次の如き結果を得た。

- ① Dithizone投与後ラット睪丸、精囊腺、前立腺の重量については著明な変化を見出し得なかった。
- ② Dithizone投与後ラット前立腺のうち前葉および後葉では著明な組織学的変化はみられず、中葉のみに変化をみた。
- ③ 前立腺中葉のうちでは、側葉、背側葉で腺上皮細胞の脱落崩壊は顕著であり、背葉では軽度であった。
- ④ 側葉および背側葉にみられた腺腔壁の変化はDithizone投与後12時間頃より次第に著明となり、3~5日では脱落崩壊がみられ、7~14日後には再生現象がみられた。
- ⑤ Dithizone投与後睪丸でも間質の変化、精細胞の障害がみられ、巨大細胞の出現をみたが、精囊腺では著明な変化を見出し得なかった。
- ⑥  $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みについては前立腺の前葉、中葉、後葉の間では著明な差異はみられず、また取り込みのみられた細胞の銀粒子数は4~20のものが大部分であった。
- ⑦ Dithizone投与後では $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みは組織学的に前立腺腺腔壁の脱落、崩壊のみられる時期に $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みおよびその銀粒子数の減少をみ、再生現象のみられる時期である7~14日後に $^3\text{H}$ -Thymidine取り込みの急激な増加を示しており、銀粒子数もやや増加の傾向がみられた。
- ⑧  $^3\text{H}$ -Thymidineの取り込みの変動からみて、Dithizoneの前立腺上皮細胞に対する作用機序は亜鉛を介しての核酸合成阻止作用、核酸構成異常、核酸代謝異常、DNA合成期の相対



的減少等が考えられる。

(本稿の要旨は第38・39回日本内分泌学会総会，第13回日本内分泌学会 西日本 地方会 総会において 発表した。稿を終るに臨み御指導，御校閲を賜った恩師加藤

教授に深謝しますと共に御助言をいただいた石部講師に感謝の意を表します。)

文献は第Ⅲ編にゆずる。

(1966年7月15日特別掲載受付)

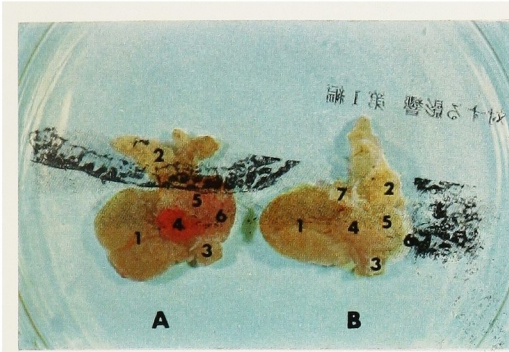


写真1. Dithizone 投与後の前立腺の肉眼的变化(側葉の着色)  
1. 後葉 2. 前葉(凝固腺) 3. 尿道 4. 側葉 5. 背側葉 6. 前葉 7. 輸精管  
A: Dithizone 投与後の前立腺の肉眼変化



写真2. 精囊腺組織像 (Dithizone 投与後)

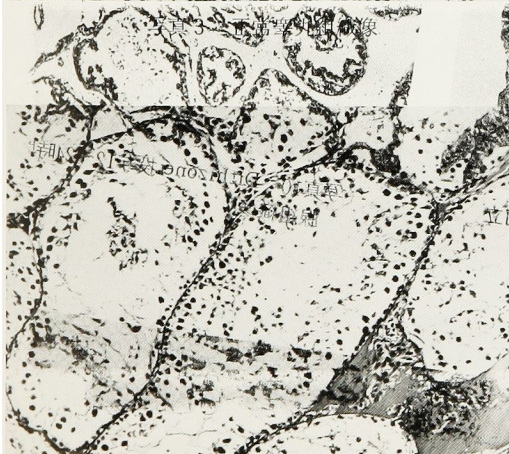


写真5 Dithizone 投与後睪丸組織像



写真6 Dithizone 投与後睪丸組織像



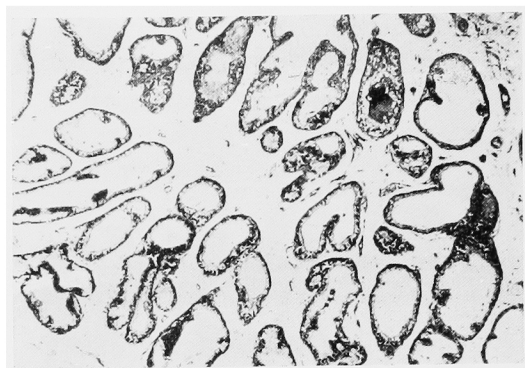


写真7 Dithizone 投与3～6時間後前立腺組織像



写真8 Dithizone 投与3～6時間後前立腺組織像

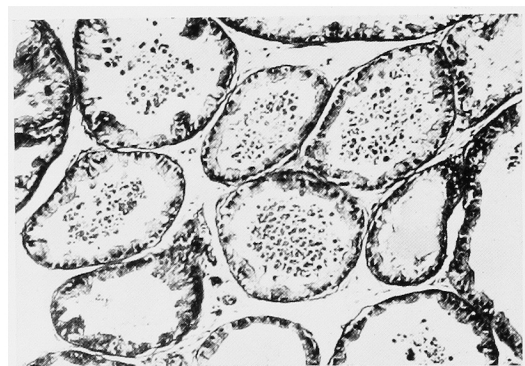


写真9 Dithizone 投与12～24時間後前立腺組織像

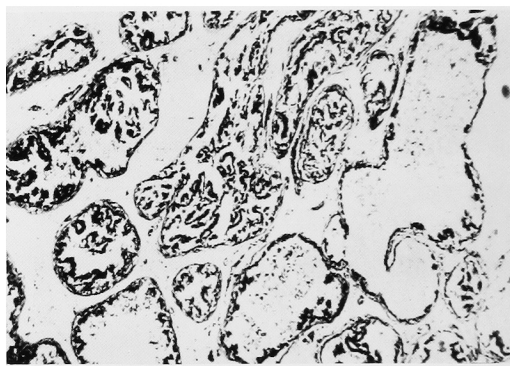


写真10 Dithizone 投与12～24時間後前立腺組織像

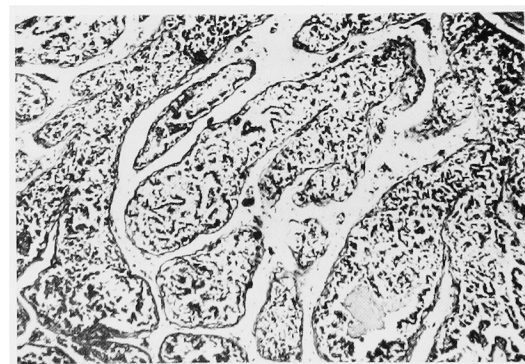


写真11 Dithizone 投与3～5日後前立腺組織像

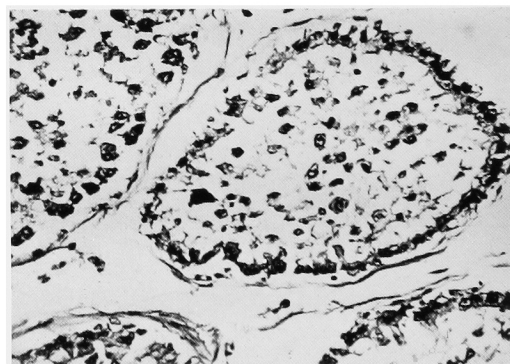


写真12 Dithizone 投与3～5日後前立腺組織像

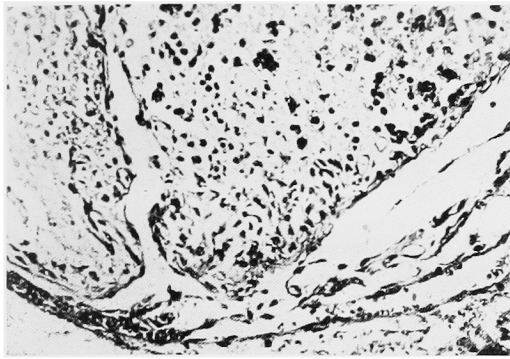


写真13 Dithizone 投与 3～5 日後前立腺  
組織像

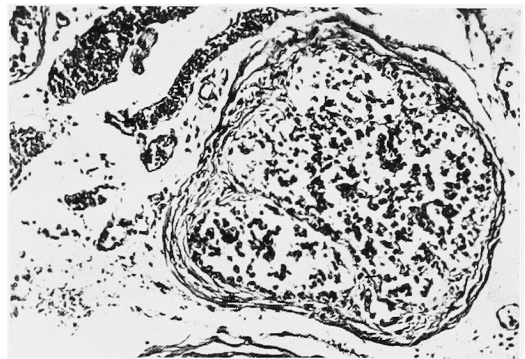


写真14 Dithizone 投与 3～5 日後前立腺  
組織像

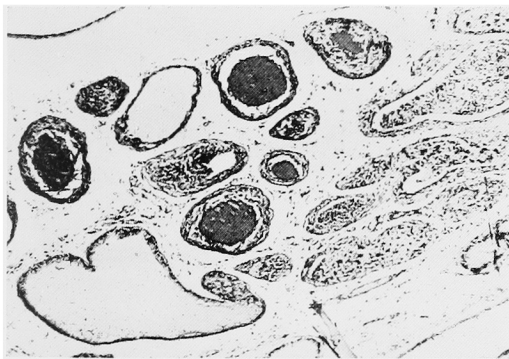


写真15 Dithizone 投与 7～14 日後前立腺  
組織像

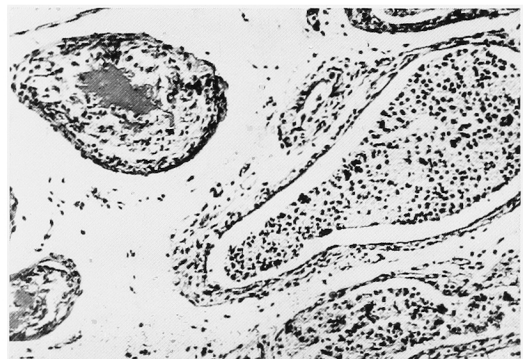


写真16 Dithizone 投与 7～14 日後前立腺  
組織像

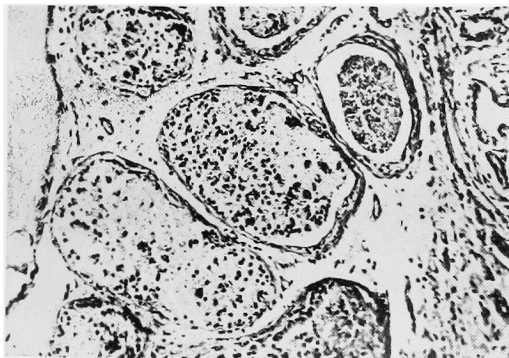


写真17 Dithizone 投与 7～14 日後前立腺  
組織像

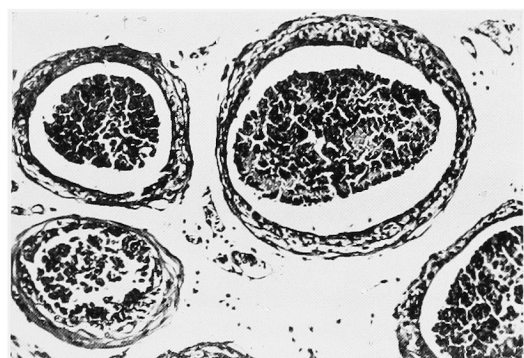


写真18 Dithizone 投与 7～14 日後前立腺  
組織像

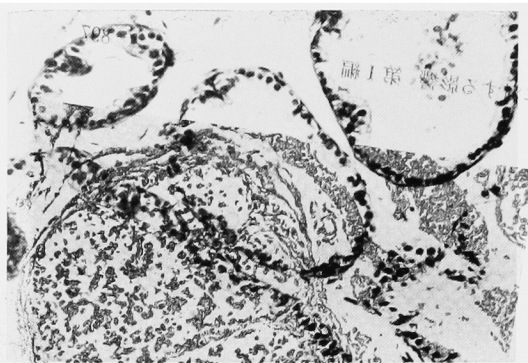


写真19 Dithizone 投与3週間、30日後前立腺組織像

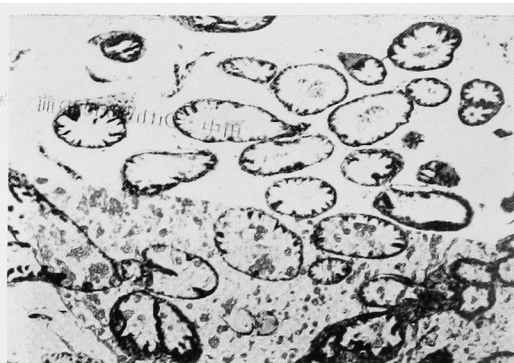


写真20 Dithizone 投与3週間、30日後前立腺組織像

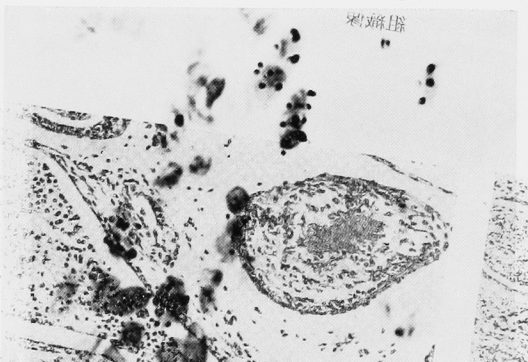


写真21 Dithizone 投与7～14日後の $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込み像(側葉)

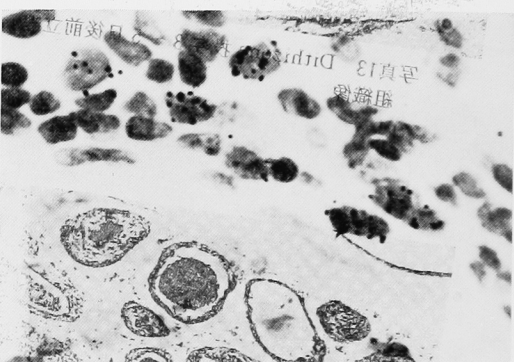


写真22 Dithizone 投与7～14日後の $^3\text{H}$ -Thymidine の取り込み像(側葉)

